



TITLE:

HTLV-1 bZIP factor suppresses TDP1
expression through inhibition of NRF-1 in
adult T-cell leukemia(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Takiuchi, Yoko

CITATION:

Takiuchi, Yoko. HTLV-1 bZIP factor suppresses TDP1 expression through inhibition of NRF-1 in adult T-cell leukemia. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20977>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	瀧 内 曜 子
論文題目	HTLV-1 bZIP factor suppresses TDP1 expression through inhibition of NRF-1 in adult T-cell leukemia (HTLV-1 bZIP factor は成人 T 細胞白血病において NRF-1 を阻害し TDP1 発現を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>成人 T 細胞白血病(ATL)はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(HTLV-1)により発症する難治性血液腫瘍である。本論文の先行研究として、ヒト免疫不全ウイルス 1 型(HIV-1)に対する治療薬である核酸系逆転写酵素阻害薬の一つアバカビル (ABC) が、ATL 細胞特異的に強い殺細胞効果を示すこと、またその機序として、ATL 細胞では DNA 修復遺伝子 TDP1 の発現が低下しているため、ゲノム DNA に取り込まれた ABC を除去できず、結果的に染色体二重鎖断裂が誘導されてアポトーシスに至ることを報告した(Tada <i>et al.</i> Sci. Adv. 2015;1: e1400203)。しかし、ATL 細胞における TDP1 発現制御機構および、TDP1 発現が低下する機序については未解明であった。そこでまず TDP1 プロモーターのクローニングを行い、転写活性に重要な部位をルシフェラーゼアッセイにより検討したところ、TDP1 の転写開始点近傍に位置するコアプロモーター部位に転写活性部位が存在し、その配列内に転写因子 nuclear respiratory factor-1(NRF-1)結合配列が認められた。NCI-60 ヒト腫瘍細胞株パネルにおいて、NRF-1 と TDP-1 の遺伝子発現には正の相関がみられた。さらに、NRF-1 導入により TDP1 プロモーター活性は上昇し TDP1 の転写は促進されるが、ドミナントネガティブ変異体導入により TDP1 プロモーター活性は低下した。ABC 非感受性である Jurkat T 細胞株における NRF-1 のノックダウンは、TDP-1 の蛋白レベルの発現抑制を誘導し、その結果、ATL 細胞同様 ABC に対する感受性を獲得した。以上より、NRF-1 は TDP1 発現の正の制御因子であると考えられた。</p> <p>この結果を踏まえ、ATL 細胞における TDP 1 発現低下の理由として、NRF-1 による TDP1 発現が阻害されている可能性が示唆された。HTLV-1 ウイルス蛋白である Tax や HTLV-1 bZIP factor (HBZ) は様々な転写因子に結合しその機能を亢進または阻害することが知られており、これらウイルス蛋白が NRF-1 を介した TDP1 発現に及ぼす影響について検討した。Jurkat Tax Tet-on 細胞では Tax 誘導により TDP1 発現量の変化は見られなかったが、HBZ 導入 Jurkat T 細胞では TDP1 発現は低下していた。さらに、HBZ の導入により TDP1 プロモーター活性が低下することを認め、さらにゲルシフトアッセイと ChIP アッセイを用いて、HBZ 導入 Jurkat T 細胞では NRF-1 の TDP1 プロモーターへの結合が阻害されていることを確認した。CoIP アッセイおよび <i>in vitro</i> binding assay の結果からは、HBZ と NRF-1 との直接的な結合が証明された。さらに、HTLV-1 感染細胞株である MT-2 細胞に NRF-1 を過剰発現させると TDP1 の発現は増加し、HBZ による発現阻害を代償した。</p> <p>以上より、ATL 細胞ではウイルス蛋白 HBZ が転写因子 NRF-1 に結合しその DNA 結合を阻害することで、TDP1 の転写・発現が阻害され、DNA 修復障害が惹き起こされることが示された。本研究は ATL の発症・進展解明に貢献するものと考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>成人 T 細胞白血病(ATL)はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(HTLV-1)により発症する難治性血液腫瘍である。ATL 細胞では DNA 修復遺伝子 TDP1 の発現が低下しているため、核酸系逆転写酵素阻害薬アバカビル (ABC) が染色体断裂を誘導しアポトーシスに至ることを先行研究で報告したが、詳細な機序は未解明であった。そこでまず TDP1 プロモーター内で転写活性に重要な部位を同定し、その位置に転写因子 nuclear respiratory factor-1(NRF-1)結合配列が存在することを見出した。NRF-1 導入は TDP1 プロモーター活性を上昇させる一方、NRF-1 knock-down Jurkat T 細胞株では TDP1 発現低下を認め、NRF-1 は TDP1 発現の正の制御因子と考えられた。また、HTLV-1 ウイルス蛋白の一つ HTLV-1 bZIP factor (HBZ) が TDP1 プロモーターへの NRF-1 の結合を阻害すること、及び NRF-1 と直接結合することを示した。HTLV-1 感染細胞株に NRF-1 を強発現させると TDP1 発現は増加し、HBZ による発現阻害を代償した。</p> <p>以上より、ATL 細胞では HBZ が転写因子 NRF-1 の DNA 結合能を阻害し、TDP1 プロモーター活性を低下させ遺伝子発現を阻害することが示された。この研究は ATL の新規薬剤 ABC の作用機序解明に貢献し ATL 新規治療開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 12 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降